

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-20389

(P2002-20389A)

(43) 公開日 平成14年1月23日 (2002.1.23)

(51) Int.Cl.	識別記号	F I	サーチコード (参考)
C 0 7 D 487/22		C 0 7 D 487/22	2 G 0 4 5
A 6 1 K 31/409		A 6 1 K 31/409	4 C 0 5 0
A 6 1 P 35/00		A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 6
43/00	1 0 5	43/00	1 0 5
G 0 1 N 33/483		G 0 1 N 33/483	C

審査請求 未請求 請求項の数 9 O L (全 12 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2001-116889 (P2001-116889)

(71) 出願人 593108772

(22) 出願日 平成13年4月16日 (2001.4.16)

ヘルス リサーチ インコーポレイテッド  
Health Research, Inc.

(31) 優先権主張番号 0 9 / 5 9 2 1 5 0

アメリカ合衆国、ニューヨーク州 14263、

(32) 優先日 平成12年6月12日 (2000.6.12)

バッファロー、エルム アンド カールト

(33) 優先権主張国 米国 (U S)

ン ストリーツ (番地なし)、ロズウェル

パーク キャンサー インスティテュー

ト ディヴィジョン内

(74) 代理人 100059959

弁理士 中村 稔 (外9名)

最終頁に続く

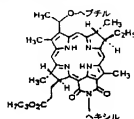
(54) 【発明の名称】 長波長吸収バクテリオクロリナルキルエーテル類似体

(57) 【要約】

【課題】 過剰増殖組織に優先的に吸収され、約700から約850nmの範囲の波長で効果的に光を吸収する安定な光増感剤を提供すること。

【解決手段】 下記構造式を有する環式テトラピロール化合物及びその類似体。

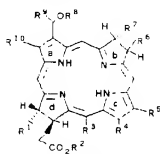
【化1】



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記構造式を有することを特徴とする環式テトラピロール化合物

【化1】



(式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及びR<sup>4</sup>は独立して炭素原子数1〜3個の低級アルキルであるが、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及びR<sup>4</sup>の少なくとも3つはメチルであり、R<sup>5</sup>は-H、-OR<sup>5</sup>、-SHR<sup>5</sup>、アリール又はアミノ酸であり、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は独立して-COR<sup>6</sup>又は一緒に下記構造式を表し、

【化2】



R<sup>8</sup>及びR<sup>9</sup>は独立して炭素原子数1〜3個の低級アルキルであり、R<sup>10</sup>は炭素原子数1〜約12個のアルキル、炭素原子数1〜約12個のS-アルキル、アリール又は炭素原子数5又は6個の複素環であり、R<sup>11</sup>は炭素原子数1〜6個のアルキルであり、及びR<sup>12</sup>は炭素原子数1〜約12個の低級アルキル、アリール又は炭素原子数1〜8個のアミノアルキルである。但し、R<sup>10</sup>、R<sup>11</sup>及びR<sup>12</sup>の少なくとも1つは疎水性であり、R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>は全体として少なくとも10個の炭素原子を含む。)

【請求項2】 化合物が約750nmから850nmの範囲の光波長に光吸収ピークを有することを特徴とする請求の範囲第1項記載の化合物。

【請求項3】 R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及びR<sup>4</sup>がすべてメチルであることを特徴とする請求の範囲第2項記載の化合物。

【請求項4】 R<sup>1</sup>が-OR<sup>1</sup>であり、R<sup>2</sup>が-n-プロピルであることを特徴とする請求の範囲第3項記載の化合物。

【請求項5】 R<sup>8</sup>及びR<sup>9</sup>が一緒に下記構造式を表し、R<sup>10</sup>がヘキシルであることを特徴とする請求の範囲第4項記載の化合物。

【化3】



【請求項6】 R<sup>1</sup>がエチルであり、R<sup>2</sup>がメチルであることを特徴とする請求の範囲第5項記載の化合物。

【請求項7】 R<sup>1</sup>がヘキシルであることを特徴とする請求の範囲第6項記載の化合物。

【請求項8】 過剰増殖組織を治療するための使用において、組織を充分な量の請求の範囲第2項から第7項に記載の化合物に曝し、ピーク吸収波長の光を照射して組織の増殖を減少させることを特徴とする請求の範囲第7項から第7項に記載の化合物の使用。

【請求項9】 過剰増殖組織の存在を検出するための使用において、組織を充分な量の請求の範囲第2項から第7項に記載の化合物に曝し、ピーク吸収波長の光を組織に照射してピーク吸収波長と異なる波長で組織から検出可能な光を放出させることを特徴とする請求の範囲第2項から第7項に記載の化合物の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明が属する技術分野】本発明は、光学的方法を用いた腫瘍などの過剰増殖組織の治療及び検出のための化合物に関する。生物体に入射した場合、これらの化合物は優先的にそのような組織に集まる能力を有し、光を吸収して、例えばその破壊によって組織の増殖を減少し、又はその組織からエネルギーの放出を生じ、組織の位置を検出できる。光学的化合物を用いたそのような減少及び検出は、光学的治療としてここで一括して参照される。

【0002】

【従来の技術】光学的治療(PDT)は、種々の固体腫瘍の治療に対する比較的新しい物理療法である。多くのポルフィリン及び対応する感光性化合物は、静脈内注射の後、腫瘍組織に優先的に集積する能力を示し、組織を光照射に敏感にする。可視光(光ファイバーを通ったレーザーにより照射される)による感光剤の活性化は結果として細胞障害剤を生産する。一重項酸素(活性化した光増感剤から直接的又は間接的にエネルギー変換により酸素分子から形成される)の生成により腫瘍ホストマス及び観察される腫瘍の破壊が起こると現在知られている。光の吸収に続いて、光増感剤はその基態一重項状態(S<sub>1</sub>)から短命の励起一重項状態(1P<sup>1</sup>; τ=10<sup>-9</sup> sec.)を経て電子的励起三重項状態(3P<sup>1</sup>; τ=10<sup>-4</sup> sec.)に変換される。励起三重項は、無放射失活を起こし、又生物学的基質の電子遷移過程に同調して、ラジカル及びランカウリオンを形成し、そのランカウリオンは、酸素分子(O<sub>2</sub>)と相互作用した後、一重項酸素及び超酸化物(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)を生成できる。一重項酸素は、PDTにおける細胞及び組織破壊を引き起こすキチ物質であり、対象組織(T)を酸化させる。又、超酸化物イオンを含んでもよいことを証明している。

【0003】1978年に、ヘマトポルフィリン誘導体(HpD)と光の組合せが、患者25人の腫瘍113箇のうち111箇

で、部分的な又は完全な腫瘍の壊死を引き起こす効果があることが報告された。精製したPDTのフォトマリン (Photofrin; 登録商標) のPDTは、膀胱癌及び食道癌用としてウサギで、初期及び進行段階の食道癌用としてウサギ及びラットで、初期段階の肺癌、食道癌、胃癌及び頸椎癌用として日本で、進行段階の食道癌及び肺癌用として音楽国で、認可された。世界中で、20,000人以上の患者が光の影響を受けやすい様な腫瘍(皮膚癌、肺癌、肺癌、頭部癌及び頸部癌、乳癌及び食道癌を含む)についてPDTの治療を受けている。現在市販されている感光性薬剤のフォトマリンが有する望ましい特性としては、優れた効力、水溶性、一重項酸素の高い収率及び容易な製造である。しかし、フォトマリンはいくつかの不利な性質を有している。(i) ポルフィリンタマール及びエーテル、エステル及び、又は単量-二量結合により結合した高分子オリゴマーの複雑な混合物であり、従って、研究するに困難である。(ii) 投与した後1〜2週間、患者の皮膚で光毒性を示す。(iii) 赤色領域(630nm)で、その比較的強い吸収のために、組織を透過した透過光の乏乏。現在、PDTにおけるフォトマリンの臨床的適用を、治療用光源から4nm未満の癌組織の破壊に制限している。

【0004】組織による光の吸収及び散乱の両方が波長の減少に伴って増加することも説明されている。従って、組織の透過は波長の増加に伴って増加する。組織内のアルブミンが可視領域の光吸収のほとんどを占める。組織内で、光の透過は550nm未満で急激に減少する。しかし、550〜630nmの透過は明らかに増加し、700nmでは透過はさらに二倍に増加する。波長が800nmに移動すると組織内の透過は10%増加する。理想的波長は700〜800nmとした他の理由はこの領域の光源の入手可能性である。現在630nmで使用されている入手可能なレーザーは、高価であり、臨床に容易に扱えない。より良い回答はダイオードレーザーの使用である。ダイオードレーザーの利点としては、低コスト、無視できるラジエーション、高い信頼性、小型化及び携帯できることである。ダイオードレーザーは、現在630nmのものを入手可能であるが、700〜800nmの範囲の吸収を持つ光増感剤は、なお深い位置にある腫瘍の治療用として望まれている。すべてのこれらの因子は、有効な光増感剤の最適吸収波長として700〜800nm以上を認識している。前述の特性以外にも、優れた腫瘍の集中、安定性、一重項酸素の生成の効率、安定性、低毒性及び好適な注射用溶液の溶解性か、有効なPDT薬剤の開発において考慮されるその他の重要な因子である。近年、幾つかの波長長く(750nm)吸収光増感剤が、最大組織透過に達する可能性のある候補として報告されている。そのような化合物の中で、幾つかの自然に発生するバクテリオクロロフィルが in vitro及びin vivoの子備研究において有効な光増感剤として報告されている。しかし、760〜780nmで吸収を有す

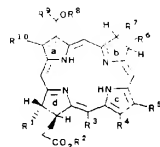
る自然に発生するバクテリオクロロフィルの多くは、酸化に対して特に敏感であり、その結果、in vitro未満で最大吸収を有するクロロフィル状態に急速に変化する(図1参照)。さらに、レーザーがin vivoでバクテリオクロロフィルの脱起に使用された場合、酸化は、レーザーウィンドウの外に吸収を持つ新しい発色団の形成を生じ、光増感性が効力を減少させるかもしれない。PDTをより一般的に腫瘍の治療に適用可能とするために、長波長吸収光増感剤(例えば安定で、通常の組織に対して相対的に高い濃度で腫瘍部に集中可能なバクテリオクロロフィル)が必要である。

【0005】  
【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の目的は、過剰増殖組織に優先的に吸収され、約700〜約850nmの波長で効果的に光を吸収する安定な光増感剤を開発することである。さらに、本発明の目的は、そのような安定な光増感剤を使用した光力学的治療の方法を提供することである。

【0006】  
【課題を解決するための手段】本発明に従って、過剰増殖組織に優先的に吸収され、約700nm〜約850nmの範囲の波長で効果的に光を吸収し、又はそのような吸収化合物の中間体として作用する新規化合物が提供される。より詳しくは、本発明の化合物は下記構造式を有する。

【0007】

【化4】



【0008】式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及びR<sup>8</sup>は独立して炭素原子数1〜3個の低級アルキルであるか、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及びR<sup>8</sup>の少なくとも一つはメチルであり、R<sup>4</sup>は-OH、-OR<sup>4</sup>、-NH<sup>2</sup>、アール又はアミドであり、R<sup>5</sup>及びR<sup>6</sup>は独立して-OH、又は一緒になって下記構造式を表し。

【0009】

【化5】



【0010】R<sup>5</sup>及びR<sup>6</sup>は独立して炭素原子数1〜3個の低級アルキルであり、R<sup>7</sup>は炭素原子数1〜約12個(通常、

炭素原子数1〜8個)の $\alpha$ -アルキル、炭素原子数1〜約12個(通常、炭素原子数1〜8個)の $\beta$ -アルキル、アリール又は炭素原子数2又は4個の複素環であり、R<sup>1</sup>は炭素原子数1〜約10個のアルキルであり、及び、R<sup>2</sup>は炭素原子数1〜約1個の低級アルキル、アリール又は炭素原子数1〜8個のアミノアルキルである。但し、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>及びR<sup>3</sup>の少なくとも1つは疎水性であり、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>及びR<sup>3</sup>は全体として少なくとも10個の炭素原子を含む。

【0111】

【発明の実施形態】本発明の特に好適な吸収化合物は、十分に疎水性である少なくとも1つのベンタント基を有し、化合物を過剰増殖組織に入り込ませる、そのようなベンタント基は、通常、少なくとも2個の炭素原子を有し、主として疎水性部として作用する場合には、通常少なくとも7個の炭素原子の脂肪族又は芳香族構造を含む。化合物は1以上のベンタント疎水性基を有してもよい。優先的に過剰増殖組織に集まることかできる特定構造としては、R<sup>1</sup>=-OR<sup>1</sup>であり、R<sup>1</sup>は炭素原子数3〜約10個の $\alpha$ -アルキル、例えば $n$ -プロピルであるそれらの化合物、R<sup>2</sup>及びR<sup>3</sup>が一緒になって下記構造式を表すそれらの化合物。

【0112】

【化6】



【0113】(式中R<sup>1</sup>は炭素原子数3〜約10個のアルキルであり、例えば $n$ -ヘキシルである)、及びR<sup>2</sup>が炭素原子数3〜約10個のアルキル、例えば $n$ -ヘプタールであるそれらの化合物が挙げられる。本発明の好ましい化合物においては、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>及びR<sup>12</sup>がすべてメチルであり、R<sup>12</sup>がエチルである。又、本発明は、700nm〜850nmの範囲の波長で光を十分に照射して組織の増殖を抑制し、又減少させるために効果的である量の本発明の吸収化合物で組織を照射することによって、腫瘍などの過剰増殖組織の治療方法及び抽出方法を含む。好ましい実施態様において、本発明はさらに、バクテリオアルブリン-B<sub>12</sub>-N-アルキルイミドの調製及びカルボン酸、エステル又はアミド官能基を有する対応する3-デアセチル-3-アルキルエーテル類似体へのそれらの交換及びバクテリオクロリンの調製及びカルボン酸、エーテル又はアミド官能基を有する一連のアルキルエーテル類似体へその交換のための容易な方法を含む。又、本発明は、光学的治療による癌又はその他の非腫瘍学的疾病の治療のために、これらの新規バクテリオクロリンの使用を含む。

【0114】本発明の化合物は、それらがバクテリオクロリンであること、即ちそれらが対角対称還元環状アルコール環(diagonally opposite fused reduced pyrrol

ones) (環b及びd)を有し、“a”結合ヒロール環と結合したアルキルエーテル基を有する点で独特である。本発明の化合物は、約500から約950nmの範囲、通常500から825nmの範囲の波長に光吸収ピークを有する。化合物は、さらに“c”結合ヒロール環と結合した電子吸引性基が存在するために安定である点で独特である。電子吸引性基は安定な数結合イミド環又はケトン基であるのが好ましい。ここで、R<sup>1</sup>は-OH、炭素原子数1〜約10個の $\alpha$ -アルキル、炭素原子数1〜約12個の $\alpha$ -アルキル、アリール(結合位置で電子吸引性)又はアミド酸ラジカルである。又、過剰増殖組織への優先的な蓄積のために、哺乳類への注入に好適な本発明の化合物は、化合物を過剰増殖組織に入り込ませることを補助する少なくとも1つ、好ましくは少なくとも2つのアミノ、クインリン基を有する。ここで用いられる“過剰増殖組織”は抑制なく増殖し、腫瘍及び黄斑変性症に関する年齢で見られる血管増殖などの抑制のない血管増殖を含む組織を意味する。

【0115】光学的治療を目的とした本発明の化合物の使用において、化合物は、通常診断又は治療すべき哺乳類、例えば人に注入される。注入のレベルは、通常体重の約0.1から約0.5mg/kgの範囲である。治療の場合には、治療すべき範囲に所望する波長及びエネルギー(例えば約100〜200J/cm<sup>2</sup>)の光を照射する。抽出の場合には、所望する波長の光を照射して蛍光を測定する。抽出で用いられるエネルギーは蛍光を発生させる充分であり、通常治療が必要とするよりも明らかに低い。本発明は、本発明の化合物を複雑な非能率的な合成工程を必要としない調製するための方法を含む。バクテリオアルブリン(図1)の調製で、バクテリオクロロフィル-a (λ<sub>max</sub> 674nm)を含む、スファエロロイデス(Sphaerolides)の $\alpha$ -プロピルアルコール抽出物は、直接KOH/プロパノールで、空気存在下で反応させる、それはすぐにHCl又はH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (pH 2〜3)で処理され、バクテリオアルブリン-B<sub>12</sub>-アロピルエステル及びH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/ $\alpha$ -プロパノールとの反応において、対応するアロピルエステル類似体12に交換される対応するカルボン酸25を生成した。自然に発生するバクテリオクロロフィル-aと比較して、重合無環系(81nm)を有するバクテリオアルブリンは室温で非常に安定であることを見出した。しかし、in vivoでは不安定であった。

【0116】重合無環系と比較して、その他の化合物のなかで結合イミド環系を有する化合物はin vivoで安定であることを示した。例えば、非ポリフィリン系の中で、アモナフィト(amonaflide)、イミド誘導体及びそれらの構造類似体は、in vivoと同様in vitroで非常に安定な抗腫瘍性薬剤として報告された。非ポリフィリン系をどのように適用すればよいかわからなかったが、バクテリオクロリン系におけるそのような環式構造の効果を検討した。初めに、我々自身の方法論をアルブリン-1

8-アールキルイミドの調製に展開した(米国特許第5,953,366号は参考文献としてここに組み込まれる)。既述ながら、この方法は複雑な反応混合物を生成した。このため、改良した方法では、最初にバクテリオアルブリン-αとアルキルアミン(例えば、n-ヘキシルアミン)と反応させた。中間体アミドの形成は分光測定及び薄層クロマトグラフィ分析によりモニターした。2つの異性体の混合物として得られた中間体アミド類似体3をシアタキサンと反応させ、溶媒を真空下で除去した。このようにして得た残物をテトラヒドロフランに再溶解させ、溶媒を蒸発させた。765nmの吸収が消失し、822nmの新しいピークが出現するまで、この手続きを数回繰り返した。このようにして得たバクテリオクロリン-8-ヘキシルイミドは「理想」の光増感剤として必要な、要求される分光特性を有し、in vitro及びin vivoで安定であったが、既述ながら、in vivoでいかなるPDT効力も示さなかった。

【0017】非バクテリオクロリン系において、しばしば腫瘍の局在を高める同様の運搬が、例えば米国特許第5,459,154号及び第5,953,366号に示されているため、我々の方法のステップは、一連のバクテリオクロリンにおいてアルキルエーテル置換の物質を研究することであった。これらの両方は参考文献としてここに組み込まれる。本発明に係るバクテリオクロリン置換基を導入するために、位置3にアセチル基を有するバクテリオアルブリンイミド4を、最初に対応する3-(ヒドロキシエチル)5に加水酸化ナトリウムと反応させることにより非常に高い収率で遊離した。シクロロパンセン中で還流により、5分間脱水して、ヒニル類似体6を>80%の収率で生成した。所望するアルキルエーテル類似体の調製のために、ヒドロキシ類似体6をHBr/酢酸で処理し、中間体プロモ-誘導体をすぐに種々のアルキルアルコールと反応させ、対応するアルキルエーテル類似体(例えば7)を収率約70%で単離した。同様の反応条件で、ヒニルバクテリオアルブリンイミドでも所望するアルキルエーテル誘導体を生成できたが、低い収率であった(図2)。又、本発明ではバクテリオアルブリン<sub>96</sub>及びそのアミド誘導体(λ<sub>max</sub> 760nm)のアルキルエーテル類似体の合成も提供した。これは化合物の調製のために、バクテリオアルブリン-18メチルエステル7を炭酸ナトリウム水溶液又は水酸化ナトリウム/THF溶液と反応させた。縮合無水環系の分裂により得られたシカルホキシル基誘導体8をシアタキサンと反応させて対応するメチルエステル9に変換した。9と加水酸化ナトリウムとの反応及び続くHBr/酢酸及び種々のアルキルアルコールでの処理は所望するアルキルエーテル誘導体を生成するだろう(図3)。フロビオン酸エステル官能基の対応するカルボン酸部分の位置特異的な(regiospecific)加水分解及び続く種々のアミノ酸の交換は一連のアミド類似体を生じ得た(図4参照)。

【0018】以下の実施例は具体例を提供するが、本発明を限定しない。触点は補正されておらず、Fisher-Johns触点装置で測定した。電子の吸収スペクトルはGemini 550分光光度計で測定した。モスバペクトルはDepartment of Molecular及びCellular Biophysics, RPI, Buffaloで測定した。NMRスペクトルはNMR研究所の400MHzBruker装置で得た。サンプルをCDCl<sub>3</sub>に溶解し、ケミカルシフトは7.25ppm(TMS)に關し、ppmで表した。薄層クロマトグラフィ分析を用いて、反応をモニターし、Merckのカットした1枚又はWhatman silica gel 60F254でプレートしたガラスチップ製プレートシート上で(厚さ0.25mm) 所望する化合物の純度をチェックした。ガラムクロマトグラフィのために、シリカゲル(70-230 mesh)を一般的な重力量ラムとして用いた。使用前に、シリカヒドロフラウ(THF)をナトリウム上で蒸留し、シクロヘキサンを水酸化カルシウム上で蒸留した。相を乾燥し、ろ過し及び蒸発させることは、硫酸ナトリウムで乾燥し、ガラスフィルターを通してろ過し、次いでBuchiロータリーエボリータを用いて、室内真空及びシリコーン油を用いた高真空中で溶媒を蒸発させることを意味する。

#### 【0019】(実施例1) 3-アセチル-バクテリオアルブリン-18-プロピルエステル4の調製

Rb スファエロイタス(350グラム)をエーテル(200mL)及びヒリジン(10mL)に溶解した。n-プロパノール(100mL)に溶解した水酸化ナトリウム(12g)を加え、空気の流れを溶媒に通して、2時間攪拌した状態に泡立たせた。エーテル層を除去し、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を加えて水相pHを2.5に調整した。溶媒を真空下で除去した。このようにして得た残物をTHFに再溶解し、蒸発させた。765nmのピークを消失し、804nmの新たなピークが出現するまで、この工程を数回繰り返した。溶媒を除去した後、残物が2つの化合物の混合物であることを見出し、ガラムクロマトグラフィにより分離した。早く移動する帯は表題の生成物と同一し、ゆっくり移動する帯は対応するカルボン酸類似体として特徴付けられ、5%の硫酸n-プロパノールで処理して、対応するプロピルエステルを生成した(収量: 250mg)。

#### 【0020】(実施例2) 3-アセチル-バクテリオアルブリン-18-ヘキシルイミド4の調製

バクテリオアルブリン-18プロピルエステル1(200mg)をシクロヘキサン(10mL)に溶解し、n-ヘキシルアミン(0.5mL)を加えた。室温で一晩攪拌し、反応させた。反応はTLC及び分光測定法(804nmのピークの消失及び765nmの新しいピークの出現)でモニターした。溶媒を高真空中で除去し、残物をシクロヘキサンに再溶解した。次いで、シアタキサンで処理し、カルボキシ官能基を対応するメチルエステルに変換した。次いで、THFを加

2. 760nmのامتピーク強度を10%に減少させ、表題の化合物の形成による新しいピークを822nmに出現させる。溶媒を真空下で除去し、次いで、溶剤として3%アセトン/シクロヘキサンを用いて、リウカラムクロマトグラフィーを用いて精製し、溶媒を完全に蒸発後、得られた残留物をジクロロメタン/ヘキサン混合溶液で洗脱させた(収量: 11.5mg) NMR (4 ppm, CDCl<sub>3</sub>): 9.31 (s, 1H, 5-H), 8.80 (s, 1H, 2'-H), 5.24 (d, 1H, 17-H), 4.42 (t, 2H, ヘキシルミド+α-CH), 4.20 (m, 3-H, 3'-H), 4.09 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>+1'-H), 3.94 (s, 1H, 7'-H)及85(H): 3.70 (s, 3H, 12-Me), 3.55 (s, 3H, 2-Me), 3.17 (s, 3H, 3-Me), 2.68 (m, 2H, 17b-H), 2.41 (m, 5H, CH-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>+8a-CH, 7b-H), 2.04 (m, 4H, 17a-H, 17b-H)及67(H): α-ヘキシル-C=O, 1.70, 1.67 (各, 3H, 18-Me及57-Me), 1.32 (m, 4H, d, α-ヘキシルイミド-CH), 1.14 (t, 3H, 3-b-Me), 0.95 (t, 1H, CH<sub>3</sub>-CH), 0.53及0.75 (各, 3H, 1-Me, 2-Me)。

(各 1H s, 2H, 2NH) C, H, N, O の質量計算値: 70

7. 半期值: 707.9 (M+1)

## 【例 3-1】(案例 3)

【例 21】(夹抱例 5)

アリルセチルカルマリン(10)とヒドロキシセチルアリルバクテリアル  
アリル-1-ヒェキシルイミドの重合  
前述のバクテリアルアリルアリミド 4 (100mg) をジクロロメタン (10ml) と及びマクロー (5ml) に溶解した。  
阻水素化ナトリウム (30mg) を、0℃で攪拌した状態  
へゆっくり (30分以内) に加えた。反応はTHF及び分光測  
量 (785nmの新しいピーク) の出現によりモニター  
した。次いで、ジクロロメタンで希釈した。有機層を5%  
酢酸で洗浄し、水で再洗浄した。硫酸ナトリウムで乾燥  
し、溶剤を蒸発させて、所望する生成物を得た (80mg,  
3)。NMR ( $\delta$  ppm): CDCl<sub>3</sub>: 8.81 (d, 1H, 5-H); 8.00  
(t, 1H, 20-H); 8.25 (d, 1H, 17-H); 6.18 (q, 1H,  
CH(OH)CH); 4.42 (t, 3H, ヘキシルイミド-a-1  
H); 4.21 (m, 4H, 3-H); 3.94 (m, 7H, 67-8-H); 3.82  
(m, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>及び15-H); 3.60及び2.70 (各s, 3H,  
3-Me); 2.68 (m, 1H, 17a-H); 2.41 (m, 5H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>  
CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>及び7b-H); 2.04 (d, 1H, 17a-H, 17a-H及びc,  
-Me-a-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 1.10 (d, 3H, 18-Me); 1.80 (m,  
2H, 8-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 及び1.75-1.30 (m, 4H, c-ヘキシルイミ  
ド-1H)。CH<sub>2</sub>: 0.10, 0.93及び0.75 $\tau$  (各1H, t, 3H, 3-Me)  
及び (t, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); -0.63及び-0.45 (各br.  
s, 2H, 20H), C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>のMass計算値: 794 実測  
値 799, 4 (94%)。長波長吸収 $\lambda_{max}$ : 789nm

【0022】(实施例4)

## 3-デアセチル-3-ビニル-バクテリオアルブリン-18-N-ハ

キシルイニドプロピルエチル  $\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{O}_2$  調製

ヒドロキシ類似体 5 (30mg) を  $\alpha$ -シクロロベンゼン (5ml) に加えて還流し、溶液を5分間攪拌した。次いで、室温に冷却した。溶液をシリカカラムを通して、最初にヘキサンで溶媒として  $\alpha$ -シクロロベンゼンを除去し、次いで

[illegible]

【0023】(实施例5)

$$3-\overline{\text{ア}}\text{ア}+\text{キ}4=3-(1-\text{ノ、ア})\text{キ}$$

平生平比に於て、老に於ては、ミナモトナリ、平子ナリ、平子朝

フル・リソノ・ホー・ヤシロ・ミト・ロ・ル・エ・ス・ナル

前述のハクテリオールアリ: b (50mg) を 30% 酢酸  
 (1.5ml) と室温で 2 時間反応させた。溶液を高真空で除  
 去した。こうして得られた残物を乾燥ジエタン  
 (5ml) に溶解し、すぐに n-ヘプタール (1ml) と反応  
 させた。不活性な塩化カルウムを加えて、クロロ  
 フォームで希釈した。標準重量の残物を 1.5 N  
 ナウムクロマトグラフィーにより精製した (収量 20mg)。 $^{13}\text{C}$   
 NMR ( $\delta$  ppm,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.82 (d, 1H, 7-H); 8.62 (s, 1H,  
 20-H); 8.30 (d, 1H, 17-H); 5.60 (q, 1H, CH(O-  
 ヘプタール)H); 5.25 (m, 1H, 17-H); 4.42 (t, 1H,  
 ヘキシルミッド-CH<sub>2</sub>); 4.29 (m, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>及 18-  
 H); 3.94 (m, 1H, 7-H 及 19-H); 3.80 (m, ヘプタ  
 ールエステル鎖の CH<sub>2</sub>); 3.65 (s, 3H, 3-Me); 3.25 (s,  
 3H, CH<sub>3</sub>); 2.62 (m, 1H, 17b-H); 2.31 (s, 5H, CH<sub>2</sub>-  
 CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-8a-CH<sub>2</sub>-47b-H); 2.01-0.75, 幾つかの多重線。  
 IR (m, 4H, 17a-H, 17a'-H 及び b, c-N-ヘキシル-CH<sub>2</sub>);  
 2.45 及び 2.51 (各 2, 3H, 18-Me 及び 47H); 1.80 (m, 2H,  
 8-H, CH<sub>2</sub>); 1.47 (6, 1, 3b) (m, 4, c-N-ヘキシルミッド-  
 CH<sub>2</sub> 及び n-ヘプタール鎖の CH<sub>2</sub>); 1.10, 0.93 及び 0.80  
 (各 2, 12, 3H, 3-Me 及び n-ヘプタール-Me 及び t, 3  
 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 0.93 及び 0.40 (各 2b, 2H, 2NH);  
 $^{13}\text{C}$ , 16-Me の Mass 計算値: 807, 実測値: 808.3 (M)  
 1. 長波長吸収  $\lambda_{\text{max}}$  796nm 表 表題の化合物を以下  
 と同様の方法によりビニル類の試料 6 から得た。しかし、  
 所望する生物活性は低収率で得られた。

【0024】(实施例6)

バクテリオブレンダリー・トリキチルエステルの調製

ハクテリオブリン、-18-キルトリニル (50mg) を無

水TfH (20mL)に溶解した。水酸化ナトリウム又は炭酸ナトリウムの水溶液を加えた。80nmの吸収ピークが消失するまで、反応は室温で攪拌して行った。次いで、pHをゆっくり5に調整し、シクロヘキサン-TfH混合液で抽出した。有機層を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を蒸発させた。残留物をシマダメタルと反応させて、対応するメチルエステルに変換し、カラムクロマトグラフィー(シリカゲル)で精製した(収量40mg)。 $^1\text{H}$  NMR ( $\delta$  ppm,  $\text{CDCl}_3$ ): 9.70, 8.72, 8.60 (各s, 1H, 3-Me $\gamma$ -H); 5.00 (d, 1H, 17-H); 4.20 (m, 1H, 18-H); 3.95 (m, 2H, 7-H及び8-H); 4.12, 4.10, 3.60, 3.58, 3.50, 3.20 (各s, 3H, 3-O $\gamma$ -Me, 2-Me及びO $\gamma$ -Me); 2.50-2.00 (m, 6H, 12-CH $_2$ , CH $_2$ -Me及び8-CH $_2$ ); 1.80及び1.70 (各d, 3H, 7-Me及び18-Me); 1.20 (t, 3H, CH $_3$ -Me); -90及び-85 (各s, 1H, 2NH), 長波長吸収 $\lambda_{\text{max}}$  760nm。

#### 【例2-5】(実施例7)

##### 生物学的研究

光増感剤を原形数のTween 80 (Aldrich) 界面活性剤に溶解し、5%ブドウ糖水溶液10倍に希釈し、1%濃度の最終Tween 80を調整した。次いで、溶液をシリシフィルマを通してろ過した。溶液の濃度は、光増感剤の長波長吸収の吸光係数に基づいて決定した。動物に薬剤を注入する前に、材料の純度をHPLCで確認し、SPS 700溶媒配送システム、波長アンテナ405nm又は780nmに固定したKratos 757吸収検出器を結合したSpectra-Physicsシステムを用いて実行した。2つの溶媒系をHPLC解析で用いた。溶媒Aは無水二塩基硫酸ナトリウム(1.0g)を水400mLに溶解して調製した。これにHPLCグレードメタノール(600mL)を加えた。溶液pHを調整して7.5に調整した。(ii) 溶媒Bは無水二塩基硫酸ナトリウム(0.5g)を水100mLに溶解して調整し、これにメタノール(900mL)を加え、pHを調整して7.5に調整した。溶媒A及びBを傾斜モードで使用した(0-10分A、10-40分A-B、40-50分B、50-60分Aに戻る)。ある場合に、溶媒Bを

isocraticモードで利用した(逆相カラムC $_{18}$ , 流速1.5 mL/min)。照射の前に、増殖した腫瘍を露下毛及び腫瘍の周りの下毛を電子クリッパーで除去した。薬剤を注入した後24時間マウスを注文製アルミニウムホルダーに配置した。チューナブル色素レーザーから135J/cm $^2$ の7、射光量のために、30分間の標準光量75mJ/cm $^2$ は70nmの最大赤色吸収ピークに合わせたin vivo反射分光法により決定されるin vivo吸収)。レーザー出力はパワーメータで測定した。

【例2-6】光照射に続いて、マウスを5 cageのグループにし、バレット状食料及び水を任意に与えた。腫瘍サイズ、及び腫瘍及び覆っている皮膚の両方外観を、光照射の後、これら動物の早期の犠牲を必要とする非応答性腫瘍の増殖なしに、90日間毎日モニタした。上記のバクテリオアルブリンイミド-67をマウス腫瘍モデル系(RIF腫瘍)でin vivo研究において評価した。結果を表1にまとめた。これらの結果から、テストした化合物の中で、3-テラセチル-3-(1-ヘパチルオキシエチル)フルブリンイミド-187が87.47  $\mu\text{mol/kg}$ の投与量で明らかに光増感活性を示すことがわかった。薬剤を注入した後24時間後、マウスを光(790nm, 135J/cm $^2$ )で処理した(21日は80%腫瘍が治癒し、90日で60%が治癒した)。より高い薬剤投与量で(1.0  $\mu\text{mol/kg}$ )、光治療の後、すべてのマウスは死亡したことは16/16。薬剤がかなり強いことを示している。す、薬剤の効力は薬剤量及び光量を変えることで決められる。例えば、薬剤量を0.2  $\mu\text{mol/kg}$ に減少させ、光量と同じにすると(135J/cm $^2$ )、どのようなPDT効力も示さないが、より高い光量(175J/cm $^2$ )では、6匹のうち4匹のマウスが90日で腫瘍がなくなった。同様の治療条件でバクテリオクロリン-5及び6はどのようなPDT効力も示さなかった。

#### 【例2-7】

【表1】表1 RIF腫瘍(1日マウス)に対するバクテリオアルブリンイミドのin vivo光増感効力

化合物 No.	注入量 ( $\mu\text{mol/kg}$ )	光量 (790nm) 注入後 24 時間	腫瘍応答 (%)		
			7 日	21 日	90 日
7	1.00	135J/cm $^2$	すべてがマウスが死亡		
	0.47	135J/cm $^2$	80	89	88
	0.2	135J/cm $^2$	応答なし		
	0.2	175J/cm $^2$	100	70	70
5	1.0	135J/cm $^2$	応答なし		
6	1.0	135J/cm $^2$	応答なし		

【例2-8】腫瘍採取及びバクテリオアルブリンイミド-7の長波長吸収in vivoでのシフトはin vivo反射率

分光により決定した。バクテリオアルブリンイミド-7は、薬剤の注入の後1日より5日で明らかに高い腫瘍照

取を有した。in vitro吸収と比較して、in vivo長波長吸収は790nmで観測され、約5nmのレッドシフトを示した。このように、腫瘍にその特定波長で光を照射した。又、この実験は組合イミド環系が光増感剤の注入後5日間もin vivoでかなり安定であることを示した。異なる治療条件におけるこれらの及びその他のバクテリオクロリン類似体のin vivo研究は現在進められている。

【0029】遅延性皮膚感光性 (prolonged cutaneous photosensitivity) は、フォトフリン投与/光線型副作用であり、我々は、マウスの足組織に3-テアセチル-11-ヘプチルオキシエチル)バクテリオアルアリシイミド7の光毒性及び治療薬剤量及び光量をテストした。マウスに0.47mmol/kgの薬剤を注入した(1.1%)。足を790nmで135J/cm<sup>2</sup>のレーザー光を1、2、3、4及び5日間照射した(図5)。足の反応を以下の任意スケールでクレード付けた。0、通常から変化なし、0.1、ごくわずかな浮腫、0.3、わずかな浮腫、0.5、中程度の浮腫、0.75、大きな浮腫、1、滲出液を伴う大きな浮腫、

1.2、わずかなうろこ状又は皮殻質の出現を伴う中程度の赤み、1.65、つま先のわずかな損傷、1.75、つま先の一定の損傷又はわずかな癒着、2.0、趾と趾と癒着したつま先、2.5、つま先のない4趾と趾と無形の趾、3、足の痕跡のみ、(図5に見られるように、足に注入後5日間照射した場合、バクテリオアルアリシイミド7はどんな毒性も示さなかった。これらの結果は、長期間皮膚光毒性を示したフォトフリンと異なり、この化合物がマウスの足組織から急速に取り除かれる可能性を示している。

【3面の簡単な説明】

【図1】バクテリオクロリンからクロリンへの光反応である。

【図2】化合物1から7の化学構造である。

【図3】化合物8から11の化学構造である。

【図4】化合物7を含むB1F腫瘍の吸収スペクトルである。

【図5】薬剤7の光毒性テストの結果である。

【図1】

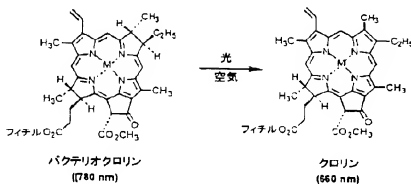


Fig. 1.





【図3】

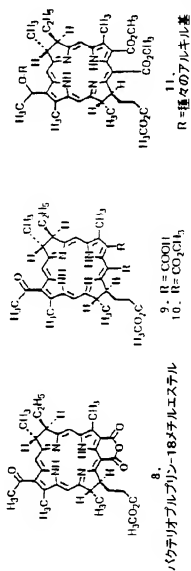
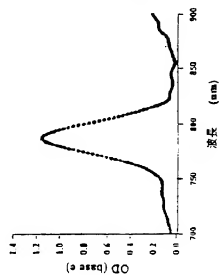


Fig. 3

【図4】

マウスに5  $\mu$  モル/kgを注入後5日間で  
12.9  $\mu$  モルの薬剤を含むin vivo RIF濃度



マウスに5  $\mu$  モル/kgを注入後24時間で  
9.8  $\mu$  モルの薬剤を含むin vivo RIF濃度

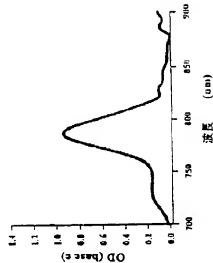


Fig. 4

【図5】

図5の最大反応値

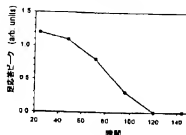


Fig. 5

フロントページの続き

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F 1	特許番号 <sup>(1)</sup> (参考)
G 0 1 N	33/50	G 0 1 N	33/50
	33/58		Z
(72) 発明者	ラヴィントラ ケイ バンデー	(72) 発明者	ウィリアム アール ボター
	アメリカ合衆国 ニューヨーク州 14221		アメリカ合衆国 ニューヨーク州 14072
	ウィリアムスビル レメイ コート		グランド アイランド ウェスト リバ
	アパートメント 804 75		アー ロード 2413
(72) 発明者	トーマス ジェイ トハティ	F クラス (参考)	26045 AA26 AA40 CB02 CB17 CB21
	アメリカ合衆国 ニューヨーク州 14072		CB30 DA80 FA12 FA29 FB06
	グランド アイランド ウェスト オー		GC15 JA20
	クワイールド ロード 2306		40050 PA02 PA04
			40086 AA01 AA02 AA03 CB04 MA01
			MA04 NA14 ZB21 ZB26